森林総合研究所 交付金プロジェクト研究 成果集 45

マツ材線虫病北限未侵入地域における 被害拡大危険度予測の高精度化と 対応戦略の策定

独立行政法人 森林総合研究所 2011.12

「交付金プロジェクト」は、平成13年度に森林総合研究所が独立行政法人となるにあたり、これまで推進してきた農林水産技術会議によるプロジェクト研究(特別研究など)の一部、および森林総合研究所の経費による特別研究調査費(特定研究)を統合し、研究所の運営費交付金により運営する新たな行政ニーズへの対応、中期計画の推進、所の研究基盤高揚のためのプロジェクト研究として設立・運営するものである。

この成果集は、交付金プロジェクト研究の終了課題について、研究の成果を研究開発や、行政等の関係者に総合的且つ体系的に報告することにより、今後の研究と行政の連携協力に基づいた効率的施策推進等に資することを目的に、「森林総合研究所交付金プロジェクト研究成果集」として公表するものである。

ISSN1349-0605

森林総合研究所交付金プロジェクト研究成果集45

「マツ材線虫病北限未侵入地域における被害拡大危険度予測の高 精度化と対応戦略の策定」

発行日 平成23年12月31日

発 行 独立行政法人森林総合研究所

〒305-8687茨城県つくば市松の里1番地電話 029-873-3211 (代表)

人

研究の要	至約	1
第1章	未侵入地域における Bursaphelenchus 属線虫と媒介昆虫の生息実態の解明	9
第2章	マツノザイセンチュウ簡易検出技術の開発	16
第3章	被害北限地域アカマツ・クロマツ林における材線虫病インパクト予測	19
第4章	加害生物の生息実態とマツ林の動態予測に基づく材線虫病被害分布予測と 対応戦略の策定	26

研究の要約

I 研究年次及び予算区分

平成 19~22 年 (4 か年) 運営交付金 (交付金プロジェクト)

Ⅱ 主任研究者

主査:藤田和幸(平成19年4月1日~21年3月31日) 中村克典(平成21年4月1日~23年3月31日) 取りまとめ責任者:森林微生物研究領域長 窪野高徳

Ⅲ 研究場所

森林総合研究所 本所、北海道支所、東北支所、九州支所、 青森県林業研究所、秋田県森林技術センター

IV 研究目的

マツ材線虫病(いわゆる、松くい虫)被害の寒冷地での被害拡大が問題となっており、被害拡大阻止の必要性が森林・林業白書でも連年指摘されてきた。また、地球温暖化による材線虫病被害のさらなる拡大への懸念が高まっている。被害拡大阻止が主題となる寒冷地での材線虫病対策では、既被害地での防除対策だけではなく、未侵入地で材線虫病の蔓延を許す下地があるのかどうかを事前に評価し、適切な対策のオプションを提示することが求められている。

寒冷地での材線虫病被害分布予測については、温度等の気候値を指標にした推定がすでにいくつか提案されている。しかし、被害リスク評価をより的確に行うために必要なマツノマダラカミキリや材線虫類の生息状況、あるいは侵入実態は十分に考慮されてこなかった。特に材線虫類については、寒冷地では枯死木中での増殖が遅く、また多くの場合樹体内での分布が局所的であるため、従来の方法では生息を確認するのに十分な頭数の線虫を得られないことが多く、さらに、少ない個体数では形態に基づく同定が困難であるという、方法論上の問題が未解決であった。また、材線虫病が侵入した際のマツ個体群の動向や植生変化の予測は材線虫病侵入時の対応戦略を考える上で必須の項目であるが、材線虫病による上層のマツの枯死を前提としたマツ林の動態予測はなされてこなかった。加害生物の侵入圧や生息適性、あるいはマツが枯死した時のマツ林の動態などの生物学的な情報を組み入れることにより、従来の材線虫病被害分布予測をより現実的で精度の高いものとすることができ、具体的な対応策を提示できるようになるだろう。

そこで、本プロジェクトでは、低密度なマツノザイセンチュウを高精度に検出する手法を開発した上で、材線虫病の北限未侵入地域である青森県を対象に加害生物の生息状況を調査し、被害拡大の可能性を評価する。また、マツ個体群およびマツ林植生の調査を通じ、材線虫病によるマツの消失がこの地域のマツ林にもたらすインパクトを評価する。これらをもとに、青森県をモデルケースとした材線虫病への対応戦略を提示する。

V 研究方法

第1章 未侵入地域における Bursaphelenchus 属線虫と媒介昆虫の生息実態の解明

①青森県域におけるマツノマダラカミキリおよび材線虫類生息実態調査

青森県内で、温度条件や既被害地との地理的な関係から材線虫病侵入が困難と考えられる下北半島と津軽半島北部を除き、主要なマツ林分布地域を網羅するように調査地域を設定し、アカマツ、クロマツの衰弱・枯死木を探索して、マツノマダラカミキリやその近縁種、およびこれらを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫の生息状況を調査した。

②マツノマダラカミキリの移動分散推定のためのマイクロサテライトマーカー作成

複合 SSR 法と磁性ビーズ濃縮法により、マツノマダラカミキリの移動分散推定のためのマイクロサテライトマーカーを開発した。

③青森県西南部でのマツノマダラカミキリ成虫捕獲調査

青森県による調査で高頻度にマツノマダラカミキリ成虫の捕獲が記録されていた深浦町大間越地区に、捕獲虫を生け捕りできるように改良した誘引捕獲器を設置してマツノマダラカミキリ成虫の捕獲を試みた。捕獲成虫は虫体の一部(後脚1本)を DNA 解析用試料とし、残りを破砕してベールマン法によりマツノザイセンチュウの保持状況を調査した。

第2章 マツノザイセンチュウ簡易検出技術の開発

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法を用いた、簡便で高精度なマツノザイセンチュウ検出手法の開発に向け、マツ枯死木材片から直接マツノザイセンチュウの DNA を抽出する方法の考案、マツノザイセンチュウの DNA に特異的に反応するプライマーの開発、LAMP 法によるマツノザイセンチュウの検出精度や最適反応時間の検討を行った。考案した一連の手法の製品化に向け、モニターテストを実施した。

さらに高度なマツノザイセンチュウ検出手法の開発に向け、次世代シークエンサーによるマツノザイセンチュウのドラフトゲノムの解読を行った。

第3章 被害北限地域アカマツ・クロマツ林における材線虫病インパクト予測

①アカマツー広葉樹混交状態の類型化に基づく松枯れ後植生変化予測

岩手県雫石町の岩手大学御明神演習林のアカマツを含む二次林およびアカマツ人工林の植生調査資料(1983~1985年調査)を解析し、アカマツが失われた場合の植生の状態を予測した。

②アカマツー広葉樹二段林におけるアカマツ抜き切り 15 年後の林分構造

岩手県雫石町の岩手大学御明神演習林内のアカマツー広葉樹二段林で、アカマツ抜き切り施業を行った林分における林分構造の変化を検証し、材線虫病によりアカマツが消失した際に起こる事態を類推した。

③高齢アカマツの林冠疎開への反応

2002年に本数率27%、材積率18%の間伐が実施された岩手県一関市大東町のアカマツ高齢人工林における、アカマツの成長調査結果を解析した。

④秋田県の海岸クロマツ林における松枯れ後のクロマツおよび広葉樹の生育状況

秋田県内に設定された海岸クロマツ生育試験地(2000年設定;17地区、全220調査区)において、林分の疎密度および林内に出現した広葉樹(DBH3cm以上)の数とサイズを調査した。 松枯れによって疎林化が進行中のクロマツ林分において、クロマツの天然下種更新の可能性を検 討した。内陸側に天然性の広葉樹林が隣接するクロマツ林で広葉樹の侵入実態を調べた。海岸マツ林に広汎に分布するニセアカシアのマツ林衰退に伴う林分構造変化を調査した。

第4章 加害生物の生息実態とマツ林の動態予測に基づく材線虫病被害分布予測と対応戦略の策 定

北東北のアカマツ・クロマツ林に材線虫病が侵入した際の被害拡大危険度と植生動態予測から、 北限未侵入域においてとられるべき戦略目標を定めた。青森県におけるアカマツ・クロマツの分 布、温量指数による材線虫病被害分布予測、隣接する秋田県・岩手県での被害状況の情報と本研 究で明らかにした加害生物生息状況から、青森県を例にした材線虫病侵入への対応戦略を策定し た。

VI 研究結果

研究計画表

課題名	担当	期間
1. 未侵入地域における Bursaphelenchus 属線	森林総研 森林昆虫研究領域、	19~22
虫と媒介昆虫の生息実態の解明	森林微生物研究領域、北海道支所、	
	東北支所、九州支所	
	青森県林業研究所	
2. マツノザイセンチュウ簡易検出技術の開発	森林総研 森林微生物研究領域、	19~22
	東北支所	
3. 被害北限地域アカマツ・クロマツ林における	森林総研 森林植生研究領域、	19~22
材線虫病インパクト予測	東北支所	
	秋田県森林技術センター	
4. 加害生物の生息実態とマツ林の動態予測に	森林総研 森林植生研究領域、	19~22
基づく材線虫病被害分布予測と対応戦略の策定	東北支所、九州支所	
	青森県林業研究所	
	秋田県森林技術センター	

第1章 未侵入地域における Bursaphelenchus 属線虫と媒介昆虫の生息実態の解明

マツノマダラカミキリの移動分散を推定するための遺伝子マーカーを新たに3個開発した。従来のものと加えて8個のマーカーが整備されたことにより、高い精度でマツノマダラカミキリの移動分散を推定することが可能となった。

4年間の調査期間を通じ、屏風山地域(7地点)、弘前市周辺(4地点)、外ヶ浜町(1地点)、深浦町(5地点)、階上町(3地点)、田子町(2地点)で124本のアカマツ・クロマツ枯死木(うち、3本は枯れ枝)を精査したが、マツノマダラカミキリやこれを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫の生息は確認されず、青森県内にこれらの生物が生息(定着)している可能性は非常に低いと結論した。深浦町大間越地区に設置した生け捕りトラップでは、4年間の調査期間を通じ2009年に雌成虫1頭が捕獲されたのみであった。捕獲の不調は、調査期間直前にこの地域に設置され

た防除帯の効果により、秋田県側からの成虫の飛来が阻害されたことの影響と考えられた。捕獲個体についてマツノザイセンチュウの保持は確認されなかった。遺伝子解析の結果、この個体の遺伝子組成は秋田県被害先端地域の個体群のものに類似し、深浦町で捕獲されるマツノマダラカミキリは秋田県由来であるとする従来の推測を支持するものであった。

第2章 マツノザイセンチュウ簡易検出技術の開発

酵素処理により約30分で材片から直接マツノザイセンチュウのDNAを抽出することに成功した。このDNA抽出液を用い、LAMP法によるマツノザイセンチュウのDNA増幅が起こること、他の線虫のDNAには全く反応しないことを確認し、最適な反応時間を明らかにした。この方法により、従来のベールマン法では検出できないような低密度のマツノザイセンチュウも検出可能であることを確認した。

モニターテストの結果に基づいて、材片の採集方法、DNA 抽出方法、LAMP 反応の感度などを 精査し、「マツ材線虫病診断キット」として製品化した。

次世代シークエンサーによるマツノザイセンチュウのゲノム解析をすすめたところ、本種のゲノムサイズは 70 megabase 程度で、少なくとも 10,000 の遺伝子をコードしていることなどが明らかになった。

第3章 被害北限地域アカマツ・クロマツ林における材線虫病インパクト予測

植生調査資料の解析結果から、東北地方のアカマツ林で林冠を形成するアカマツが消失すれば 広葉樹林二次林へと移行すると考えられるが、広葉樹の本数密度は標準的な広葉樹林二次林に比 べて著しく低くいため、疎林化することが危惧された。実際、アカマツ抜き切り施業を行った林 分では、伐採後 15 年を経てもコナラを主とする落葉広葉樹の上層木密度が 121 本/ha という疎林 状態にあった。

高齢アカマツ林での間伐試験では、アカマツ残存木の成長は間伐後に好転することが多かったが、周辺個体との距離が近いほど成長がよい傾向が認められた。つまり、高齢アカマツの成長は隣接個体との競争で抑制されているとは考えられず、したがって、材線虫病により個体数減少が生じても、その損失がそのまま残存個体の成長で補完されることにはならないと予想した。

秋田県の海岸クロマツでは、防除が継続して実施された地区では林分として維持可能な立木密度が保たれていたが、防除が行われなかった地区では無立木化が進み、マツ林を維持するには防除が必須であることが示された。林内に生育する広葉樹の樹高、立木密度から材線虫病でクロマツが急速に消失した後に成立する広葉樹林は低木の疎林になると予想され、クロマツ林内で旺盛な繁殖を示すニセアカシアは潮風の強い影響下では低木化するため、いずれもクロマツ林のもつ海岸防災林としての機能を代替することはできないと考えられた。海岸クロマツ林におけるクロマツ稚樹の分布は下層植生や林床状態を反映して不均一であり、成長は樹冠開空度の影響を強く受けていた。海岸林の防災機能を維持するためにクロマツの天然更新を促進しようとするなら、林床整備や光環境の調整により稚樹の定着と成長を促すことが必要である。

第4章 加害生物の生息実態とマツ林の動態予測に基づく材線虫病被害分布予測と対応戦略の策 定 本プロジェクトの成果より、県内に材線虫病の媒介昆虫やマツノザイセンチュウ、およびその 近縁種は生息していないが、県西南部深浦町は秋田県側から飛来するマツノマダラカミキリによ る被害侵入の可能性があり、対策の重点地域であると判断した。また、材線虫病の侵入を許せば アカマツ林は広葉樹疎林となり、海岸クロマツ林は崩壊して公益的機能が損なわれると予想され、 いずれにおいても「放置」というオプションは採り得ないものと考えた。これらの条件を前提に、 青森県におけるアカマツ・クロマツの分布、温量指数による材線虫病被害分布予測、隣接する秋 田県・岩手県での被害状況の情報を重ね合わせ、材線虫病の侵入・被害拡大可能性に応じて青森 県内を4地域に区分し、それぞれの地域で材線虫病侵入に備えて講じられるべき施策の方針を提 示した。

VII 成果の利活用

プロジェクトで提案した青森県における材線虫病対応戦略も含めた成果の周知、浸透を図るべく、平成 23 年 1 月 28 日に公開シンポジウム「未侵入地域での効果的な松くい虫予防対策に向けて」(於 青森市男女共同参画プラザ)を開催した。提案した対応戦略は、プロジェクトに参画した青森県林業研究所を通じて県内行政、林業関係機関向けの冊子「林業会報」(社団法人青森県林業会議 発行)に掲載・紹介され、青森県での材線虫病対策の指針として参照されている。

プロジェクトで開発したマツノザイセンチュウ簡易検出技術は企業との連携により製品化が進められ、株式会社ニッポンジーンから「マツ材線虫病診断キット」として平成 21 年 6 月 19 日に発売された。本キットはすでに材線虫病を扱う現場や研究機関に普及し、青森県や岩手県内のこれまでマツノザイセンチュウが確認されていなかった場所での検出に適用されるなど、実用レベルで効果を発揮している。

平成 22 年 1 月の青森県蓬田村における材線虫病被害木発見に際し、我々は本研究の成果に基づき、被害が当地に生息するマツノマダラカミキリによってもたらされた可能性は極めて低いことを指摘した。青森県林政課はこの指摘に従って、偶発的に侵入した少数のマツノマダラカミキリが原因であるとの立場に立って、平成 22 年夏に被害木周辺の徹底監視を主体とする適切な対応策を実施した。以降、この地域に新たな材線虫病被害木は発生していない。

Ⅷ 今後の問題

材線虫病北限未侵入域において、現在マツノマダラカミキリが生息するかどうかを明らかにすることに加え、侵入した場合にマツノマダラカミキリが定着できるのかどうかを明らかにすることは、材線虫病の侵入・分布拡大の危険度を判定する上で重要である。この課題については、プロジェクト期間中に評価委員からの指摘を受け、温度環境の解析という観点から研究に着手したが、期間内に結論を得るには至らなかった。植生動態予測についても、松枯れ後に生じるとされる疎林状態がどの程度の時間スケールで回復可能なものなのか、防災機能などの点で許容範囲内のものであるのかなどの点について、定量的に検証することができなかった。材線虫病への対応戦略のさらなる精緻化に向け、これらの問題への取り組みが必要である。

材線虫病等の森林病虫害への対応戦略を策定する上で、加害樹種の分布情報は基礎となるものである。今回は幸い青森県よりアカマツ・クロマツの樹種毎の分布情報(ただし、民有林のみ)の提供を受けることができたが、このような樹種単位での詳細な植生区分情報が整備されている

例は極めてまれである。リモートセンシング技術等を援用して、防除戦略上必要な任意の場所について必要な植生区分情報を得られる技術開発が是非必要である。

マツノザイセンチュウのゲノム解析は、マツノザイセンチュウ検出手法開発のためだけでなく、 材線虫病研究の基盤情報として国際的に研究需要が高く、また研究競争も激しい分野でもあるため、取り組みの強化が強く望まれる。

IX 研究発表

- 相川拓也(2008)マツ樹体内で優占するのは誰?:増えやすいマツノザイセンチュウと増えにくいマツノザイセンチュウ. 林業と薬剤、186、13-18.
- 相川拓也(2010)マツノザイセンチュウのDNA情報を利用した簡易なマツ材線虫病診断法:マッオ線虫病診断キットのご紹介.森林と林業、14-15.
- 相川拓也 (2010) FAQ簡易でかつ迅速なマツ材線虫病診断法が開発されたそうですが. STAFF Newsletter、21、6.
- Aikawa T., Kikuchi T. (2007) Estimation of virulence of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) based on its reproductive ability. Nematology, 9 (3), 371-377.
- Aikawa T., Kanzaki N., Kikuchi T. (2009) Simple diagnosis of Pine Wilt Disease using loop-mediated isothermal amplification. Program and abstracts of IUFRO International Symposium on Pine Wilt Disease, Nanjing, China, 34.
- 相川拓也・神崎菜摘・菊地泰生(2010)マツノザイセンチュウの DNA 情報を利用した簡易なマッオ線虫病診断法の開発. 林業新技術 2010、3-4.
- 相川拓也・神崎菜摘・菊地泰生(2010)マツノザイセンチュウの DNA を利用した簡易なマツ材線虫病診断ツール"マツ材線虫病診断キット"について. 森林防疫、59、60-67.
- 相川拓也・菊地泰生(2009) マツノザイセンチュウの遺伝子情報を利用した簡易なマツ材線虫病 診断法. 平成 20 年度森林・林業技術交流発表集(東北森林管理局編)、153-155.
- 相川拓也・菊地泰生・神崎菜摘 (2010) マツ材線虫病診断キット. 実用化カタログ:産官学連携 に向けて、22-23.
- 相川拓也・菊地泰生・神崎菜摘(2011)マツ材線虫病診断キットの開発. 第 2 期中期計画重点課題成果選集、28.
- 加賀谷悦子 (2010) 森林昆虫の分子生態学:来し方を知って行く末を考える. 化学と生物 (日本 農芸化学会和文誌)、48(2)、144-147.
- 加賀谷悦子 (2011) マツノマダラカミキリの東北における遺伝的構造. 第 122 回日本森林学会大会学術講演集 (CD-ROM)、C22.
- 金子智紀(2008) 林孔植栽した広葉樹 10 年間の成長: 秋田市堀川地区の海岸クロマツ林における 事例. 平成 20 年度日本海岸林学会岩手大会講演集、5-6.
- 金子智紀(2009) 秋田県の海岸クロマツ林における 2000~2008 年の松枯れ動態. 平成 21 年度日本海岸林学会研究発表会講演要旨集、19-20.
- 金子智紀・野口正二 (2010) 天然更新したクロマツ稚樹群の成長と光環境. 平成 22 年度日本海岸 林学会鹿児島大会講演集、7-8.

- Kikuchi T., Aikawa T., Kosaka H., Pritchard L., Ogura N., Jones J. T., (2007) Expressed sequence tag (EST) analysis of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus*. Molecular and Biochemical Parasitology, 155, 9-17.
- Kikuchi T., Aikawa T., Oeda Y., Karim N., Kanzaki N. (2009) A rapid and precise diagnostic method for detecting the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification. Phytopathology, 99, 1365-1369.
- Kosaka H. (2008) Inoculation of pine trees with avirulent pine wood nematode under experimental conditions: risk-benefit analysis. Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystems (Mota M. & Vieira P. eds.), Springer Science & Business Media, 293-301.
- 正木隆・森茂太・梶本卓也・相澤州平・池田重人・八木橋勉・柴田銃江・櫃間岳(2011)高齢・ 高密度のアカマツ林の間伐は個体の成長を改善するか. 日本森林学会誌、93、48-57.
- Nakamura K. (2008) Expansion of pine wilt disease in Japan and the measures employed at the edge of the spreading area of damage. Proceedings International Symposium on Pine Wilt Disease (Seoul, 2008.12.10), 3-13.
- 中村克典(2011) 北限未侵入地域でのマツ材線虫病対策を考える:公開シンポジウム「未侵入地域での効果的な松くい虫予防対策に向けて」より.森林防疫、60(6)、223-229.
- 中村克典・相川拓也・前原紀敏・市原 優・神崎菜摘・加賀谷悦子・小坂 肇・木村公樹・今 純一・ 矢本智之(2011)マツ材線虫病北限未侵入域におけるマツノマダラカミキリおよび Bursaphelenchus 属線虫の生息確認調査.第122回日本森林学会大会学術講演集(CD-ROM)、 C24
- 中村克典・杉田久志・木村公樹・金子智紀(2011)マツ村線虫病北限未侵入地域を守るための対応戦略.森林総合研究所第2期中期計画成果集:重点課題アイa生物多様性保全技術及び野生生物等による被害対策技術の開発、32-33.
- 酒井康子・小坂肇・秋庭満輝(2007)弱病原力マツノザイセンチュウの前接種によるリュウキュウマツのマツ材線虫病に対する誘導抵抗性.日本森林学会誌、89(2)、102-106.
- Shoda-Kagaya E (2007) Genetic differentiation of the pine wilt disease vector *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) over a mountain range revealed from microsatellite DNA markers. Bulletin of Entomological Research, 97(1), 167-174.
- Shoda-Kagaya E. (2008) Molecular ecology of vectors. Pine Wilt Disease. (Zhao B.G., Futai K., Sutherland J., Takeuchi Y. eds.), Springer Japan, 184-198.
- Shoda-Kagaya E., Kawai M., Maehara T., Iwata R., Yamane A. (2008) Genetic structure of *Monochamus alternatus* in Japan. Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystems (Mota M. & Vieira P. eds.), Springer Science & Business Media, 235-242.
- 杉田久志・高橋利彦・柴田銃江・星野大介・櫃間 岳・八木橋勉・中村克典(2010) 岩手県雫石町 のアカマツ-落葉広葉樹二段林におけるアカマツ抜き伐り後の広葉樹下木の林分構造の変 化. 東北森林科学会誌、15(1)、11-19.
- Togashi K., Taga Y., Iguchi K., Aikawa T. (2008) Bursaphelenchus mucronatus (Nematoda: Aphelenchoididae) vectored by Monochamus urussovi (Coleoptera: Cerambycidae) in

Hokkaido, Japan. Journal of Forest Research, 13, 127-131.

(特許)

相川拓也・菊地泰生・神崎菜摘. 木片からのマツノザイセンチュウの DNA 抽出方法、マツノザイセンチュウの LAMP プライマーセット、および木片からのマツノザイセンチュウの検出方法. 国内特許出願番号:特願 2008-121316/国際(PCT)特許出願番号: PCT/JP2008/069185 / 台湾特許出願番号: 97143368

X 研究担当者

- 第1章 中村克典、相川拓也、加賀谷悦子、小坂 肇、木村公樹、今 純一
- 第2章 相川拓也、菊地泰生
- 第3章 杉田久志、正木 隆、柴田銃江、金子智紀
- 第4章 中村克典、杉田久志、柴田銃江、正木 隆、小坂 肇、木村公樹、今 純一、金子智紀

ア 研究目的

大量のマツ枯死木が発生しない環境下ではマツノマダラカミキリ等の Monochamus 属カミキリムシは希少な昆虫である。このため、これらの生物の本州最北端地域や北海道のような材線虫病未侵入地域における分布や生活様式、あるいはマツノザイセンチュウと近縁の材線虫類との相互作用はほとんどわかっていない。青森県域や岩手県北部には従来マツノマダラカミキリは生息しないとされてきたが(槇原 1997)、青森県では行政による誘引捕獲調査により 2000 年以降、西南部日本海側を中心に広い範囲でマツノマダラカミキリ成虫の捕獲記録があり(図 1-1)、マツノマダラカミキリの侵入・定着または低密度での県内分布が疑われる状況にあった。一方、マツノザイセンチュウは外来生物であるが、同じ Bursaphelenchus 属にはニセマツノザイセンチュウをはじめとする在来の近縁種が複数存在する(神崎、2008)。もしこれらの地域に媒介者となる可能性があるカミキリムシが生息し、材線虫類との関係をすでにもっているなら、材線虫病被害地域から侵入したマツノザイセンチュウが在来の材線虫類に置き換わることで容易に分布拡大できる可能性がある。材線虫病未侵入地域における被害拡大リスクを評価するには、当該地域における

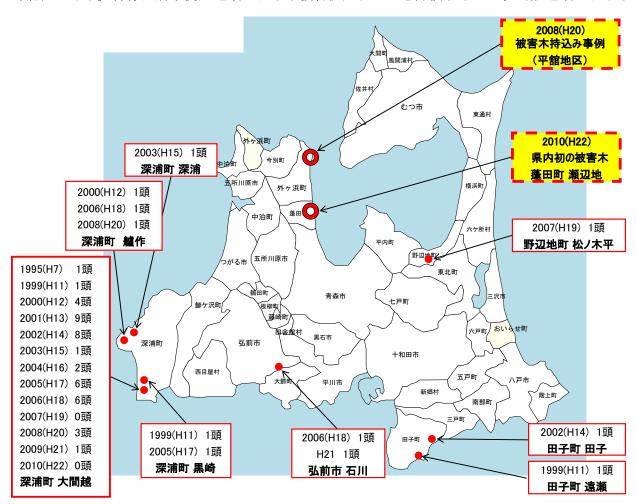


図 1-1 青森県が実施しているマツノマダラカミキリ成虫誘引捕獲調査(溺死型トラップ使用)による成虫捕獲実績、および県内で確認されたマツ材線虫病被害の位置。

マツノマダラカミキリや材線虫類の生息状況を確認する必要がある。

誘引捕獲調査により比較的高頻度でマツノマダラカミキリ成虫が捕獲されていた青森県西南部について(図 1-1)、捕獲個体は秋田県側から飛来したものと推測されていたが、その証拠は示されていなかった。個体の由来を探索する方法として遺伝マーカーの利用が有効であり、マツノマダラカミキリについてもマイクロサテライトマーカーを使った個体群の類縁性の評価がなされているが(Shoda-Kagaya、2007)、より詳細な解析にはさらなるマーカーの開発が必要であった。また、捕獲個体がマツノザイセンチュウを保持するかどうかは、材線虫病の侵入に関わる重要な情報であるが、従来の方法では捕獲個体を水盤に落として溺死させるため、線虫保持状況を調査することは不可能であった。

そこで、本研究では、材線虫病北限未侵入地域における被害拡大リスク評価の精密化に向けて、 青森県域におけるマツノマダラカミキリ等媒介昆虫、および関連する Bursaphelenchus 属線虫の 生息実態を明らかにするとともに、既被害地域に隣接した青森県西南部における生け捕り型トラ ップを使ったマツノマダラカミキリ成虫の誘引捕獲調査により、侵入する成虫の由来、マツノザ イセンチュウ保持状況を明らかにしようとした。

イ 研究方法

①青森県域におけるマツノマダラカミキリおよび材線虫類生息実熊調査

青森県内で、温度条件や既被害地との地理的な関係から材線虫病侵入が困難と考えられる下北 半島と津軽半島北部を除き、主要なマツ林分布地域を網羅するように調査地域を設定した。具体 的な調査地と調査時期は以下の通りである。

津軽半島西側 屏風山地域(7地点)

中南部 弘前市周辺(4地点)

津軽半島東側 外ヶ浜町(1地点) 西北部 深浦町(5地点) 2007年10月30日~11月2日

2008年10月27~29日、30~31日

2008年10月29日

2009年11月9~12日

東南部(三八地方)階上町・田子町(5地点) 2010年11月11~16日 調査地の位置を図1-2に示す。

マツノマダラカミキリは成虫活動期である夏期に、何らかの原因で衰弱・枯死したマツ類樹木の樹幹に産卵し、孵化した幼虫は樹皮下で内樹皮や辺材を摂食して発育した後、多くは材内に穿入して越冬する。マツノマダラカミキリを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫は、マツノマダラカミキリ幼虫が生息する木に同所的に存在するはずである。そこで、調査にあたっては、マツノマダラカミキリが幼虫として樹皮下、材内に生息する 10~11 月に、調査地内で数ヶ月以内に枯死したと思われるアカマツ、クロマツを探索し、伐倒の後、全幹を剥皮してマツノマダラカミキリおよびその近縁種の幼虫またはその生息の形跡(産卵痕、虫糞)の有無を調べた。また、充電式電動ドリルを用いて材片を適宜採取し、ベールマン法により抽出された線虫を検鏡・確認してBursaphelenchus 属線虫を検索した。調査木には被圧枯死木、風害木、火災被害木、巻き枯らし木、除草剤薬害木の他、マツノマダラカミキリが生息可能な太さの枯れ枝も含めた。

生息確認調査の精度は調査量に大きく依存する。そこで毎回の調査に際しては、プロジェクトメンバー以外にも呼びかけて松くい虫関係の研究者を動員することで、専門家による集約的な調査を実現した。

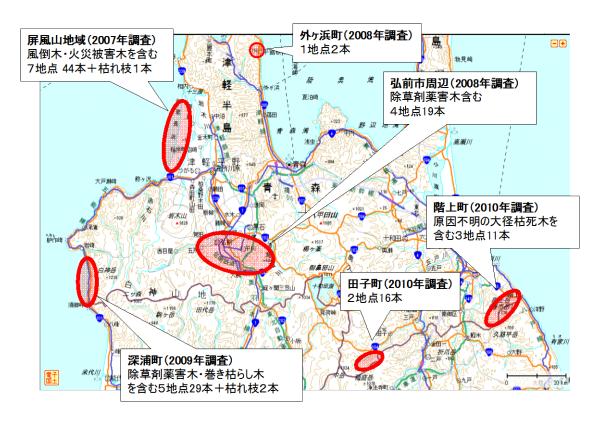


図 1-2 マツノマダラカミキリおよび材線虫類生息実態調査の実施場所。

②マツノマダラカミキリの移動分散推定のためのマイクロサテライトマーカー作成 複合 SSR 法と磁性ビーズ濃縮法により、マツノマダラカミキリの移動分散推定のためのマイクロサテライトマーカーを追加開発した。

③青森県西南部でのマツノマダラカミキリ成虫捕獲調査

青森県深浦町大間越地区で、行政により実施されている誘引捕獲調査(溺死型トラップ使用、深浦町内 13 箇所に各4基)に追加する形でマツノマダラカミキリ生け捕り用トラップ(中村ら、1999)を設置した。設置トラップ数は2007年は6基、2008~2010年は18基とし、毎年6月から10月まで、週1回の間隔で捕獲虫の確認を行った。捕獲成虫は虫体の一部(後脚1本)をDNA解析用試料とし、残りを破砕してベールマン法によりマツノザイセンチュウの抽出を試みた。

ウ結果

①青森県域におけるマツノマダラカミキリおよび材線虫類生息実態調査

4年間の調査期間を通じ、延べ 103人・日の研究者を動員して、青森県内 5 地域 22 地点で 124本の枯死木 (うち、3本は枯れ枝)を精査したが、マツノマダラカミキリやこれを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫の生息は確認されなかった (表 1-1)。弘前市近郊の大鰐町駒木のアカマツ枯死木で、マツノマダラカミキリと同属のヒゲナガカミキリの生息を確認した。深浦町木蓮寺のクロマツ枯死木で、マツノマダラカミキリのものに似た穿入孔を1個確認した。

表 1-1 青森県域におけるマツノマダラカミキリおよび材線虫類生息実態調査。

調査地	調査 地点数	調査時期	調査木数	マツノマダラ カミキリ生息 確認	マツノザイ センチュウ 検出	備考
屏風山地域	7	2007年10月30日~11月2日	45	0	0	枯れ枝1本を含む。
弘前市周辺	4	2008年10月27~29日、30~31日	19	0	0	
外ヶ浜町	1	2008年10月29日	2	0	0	#### ### #############################
深浦町	5	2009年11月10~13日	31	0	0	枯れ枝2本を含む。木蓮寺の枯れ クロマツ1本でマツノマダラカミキリ に似た穿入孔を確認した。
階上町	3	2010年11月16~17日	11	0	0	に終た牙八元と唯心した。
田子町	2	2010年11月18~19日	16	0	0	

表 1-2 青森県深浦町における、県実施のマツノマダラカミキリ誘引捕獲調査と本調査の生け捕りトラップによる捕獲頭数。

 年	1995	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007*	2008*	2009*	2010*
県誘引調査 トラップ数 捕獲数	52 1	52 2	52 5	52 9	52 8	52 2	52 2	52 7	52 7	52 0	52 4	52 1	52 0
本調査 トラップ数 捕獲数										6 0	18 0	18 1	18 0
備考		防除帯設置↑											

年の右肩の*はプロジェクト研究期間を示す

採取した材片からは、低頻度ながらマツノザイセンチュウ・ニセマツノザイセンチュウでない *Bursaphelenchus* 属線虫が数種検出され、それらは新種を含む可能性がある。

②マツノマダラカミキリの移動分散推定のためのマイクロサテライトマーカー作成

磁性ビーズ濃縮法により 20 対のプライマーセットを設計し、各々について既存のマツノマダラカミキリ捕獲個体試料における増幅を確認した。新たに3マーカーを解析に供試できるようになり、従来のものと加えて8個のマーカーが整備されたことにより、高い精度でマツノマダラカミキリの移動分散を推定することが可能となった。

③青森県西南部でのマツノマダラカミキリ成虫捕獲調査

調査期間を通じ、生け捕り型トラップで捕獲されたマツノマダラカミキリ成虫は 2009 年 8 月 2 日の雌 1 頭のみであった(表 1-2)。近傍の溺死型トラップでは、2008 年に 4 頭の成虫が捕獲された。

生け捕り型トラップで捕獲された1頭の成虫について、マツノザイセンチュウの保持は確認されなかった。この個体と、過去に深浦町で採集された個体の合計 7 個体について遺伝子解析した結果、これらの個体の遺伝子組成は秋田県の先端被害地付近の集団のものに類似していた (図 1-3)。

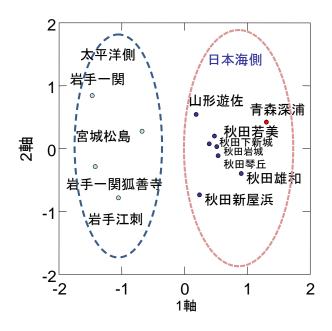


図 1-3 東北産マツノマダラカミキリの遺伝的類縁製。Nei の遺伝距離 DA を多次元尺度法により平面上に図示した。

工 考察

青森県内の主なアカマツ・クロマツ分布地域(下北半島、津軽半島北部を除く)を網羅する集約的なマツ枯死木の伐倒・剥皮調査を実施したが、マツノマダラカミキリやこれを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫の生息は確認されなかった(表 1-1)。ただし、秋田県の既被害地域に隣接する西南部深浦町では、1本のクロマツ枯れ枝にマツノマダラカミキリのものに似た古い穿入孔が確認された。この地域には従来よりマツノマダラカミキリ成虫が飛来しており(図 1-1)、機会的に侵入した雌成虫が枯れマツ(枝)に産卵し、幼虫が育って新成虫が羽化脱出することは十分に考えられる。しかし、この地域に当年発生した枯死木でマツノマダラカミキリの生息は確認されなかったことから、個体群としては定着していないと判断した。本調査の結果から、2010年時点で青森県内にこれらの生物が生息(定着)している可能性は非常に低いと結論した。

2008年の調査の際、大鰐町駒木のアカマツ枯死木からマツノマダラカミキリと同属のヒゲナガカミキリの幼虫の生息を確認した。本種の加害対象木はマツ属を含む針葉樹の衰弱・枯死木で(林ら、1984;大林・新里、2007)マツノマダラカミキリと同様であるため、マツノザイセンチュウ侵入時に媒介者となる可能性が考えられ、注意が必要である。しかし、本種の分布の中心はより高標高域にあるとされ(槇原、私信)、実際、アカマツ林を対象とした本調査での生息確認例も1件に過ぎなかった。このことから、低標高のマツ林に材線虫病が侵入した際に、本種が直ちに主要な媒介者として問題になることはないであろう。

深浦町大間越地区に設置した生け捕りトラップによるマツノマダラカミキリ成虫の誘引捕獲は、4年間の調査期間を通じ1頭と極めて不調であった(表 1-2)。これには、青森県・秋田県が県境~大間越地区に設置した防除帯(非マツ林化地帯の設定)の効果が大きかったと考えられる。防除帯は、2005年7月に県境から 250m の秋田県側に材線虫病被害木が発生したことを受け、2006年から 2007年にかけてこの地域に設置されたものである。近傍の溺死型トラップでの誘引捕獲数も激減していることから、防除帯によるマツノマダラカミキリ成虫の飛来抑止効果は明らかであ

る。ただし、防除帯で成虫の飛来を完全に阻止することはできず、溺死型・生け捕り型を合わせ、2008年には4頭、2009年には2頭が捕獲された。捕獲された6頭の内、生け捕り型での捕獲が1頭にとどまっているのは、生け捕り型の捕獲効率が溺死型に劣る(中村ら、1999)ことを反映していると考えられる。

捕獲個体の遺伝子組成は秋田県の集団に近かったことから、この個体は秋田県側から飛来した可能性が高い。このことは、深浦町で捕獲されるマツノマダラカミキリ成虫が秋田県由来であるという予測を支持するものである。そのような飛来個体のマツノザイセンチュウ保持率・保持数を知ることで、この地域への材線虫病侵入危険度を評価しようとしたが、捕獲頭数が少なかったため果たせなかった。

オ 今後の問題点

飛来したマツノマダラカミキリが定着する過程で温度環境、特に一時的な低温イベントが阻害 要因として働いている可能性について検討するよう評価委員からの指摘があり、温度の実測を始 めたところであるが、プロジェクト期間中に結論を得るには至らなかった。マツ材線虫病の分布 限界を考える上で重要な研究項目と考えており、今後さらに検討を進めたい。

力 要約

最北端地域を除く青森県内の主なマツ林分布地においてマツノマダラカミキリ等媒介昆虫および関連する Bursaphelenchus 属線虫の生息状況を調べるとともに、秋田県の既被害地域に隣接する西南部深浦町で捕獲されるマツノマダラカミキリの由来とマツノザイセンチュウ保持状況の解明を試みた。並行して、マツノマダラカミキリの移動分散の推定に用いるマイクロサテライトマーカーを追加開発した。

4年間の調査期間を通じ、屛風山地域(7地点)、弘前市周辺(4地点)、外ヶ浜町(1地点)、深浦町(5地点)、階上町(3地点)、田子町(2地点)で124本のアカマツ・クロマツ枯死木(うち、3本は枯れ枝)を精査したが、マツノマダラカミキリやこれを媒介者とする Bursaphelenchus 属線虫の生息は確認されず、青森県内にこれらの生物が生息(定着)している可能性は非常に低いと結論した。高頻度にマツノマダラカミキリの誘引捕獲が記録されていた深浦町大間越地区で、捕獲成虫の線虫保持状況調査と遺伝解析を可能にするため、生け捕りトラップを設置して成虫の捕獲を試みたが、4年間の調査期間を通じ2009年に雌成虫1頭が捕獲されたのみであった。捕獲の不調は、調査期間直前にこの地域に設置された防除帯の効果により、秋田県側からの成虫の飛来が阻害されたことの影響と考えられた。捕獲個体についてマツノザイセンチュウの保持は確認されなかった。遺伝子解析の結果、この個体の遺伝子組成は秋田県被害先端地域の個体群のものに類似し、深浦町で捕獲されるマツノマダラカミキリは秋田県由来であるとする従来の推測を支持するものであった。

キ 引用文献

林 匡夫・森本 桂・木本新作(1984)原色日本甲虫図鑑(IV).保育社、438p.

神崎菜摘 (2008) マツノザイセンチュウ以外の *Bursaphelenchus* 属樹木病原線虫:病原性とリスク評価. 森林防疫、57、75-86.

- 槇原 寛 (1997) 媒介昆虫の種類と生活史. 松くい虫 (マツ材線虫病) 沿革と最近の研究 (全国森 林病虫獣害防除協会編)、44-64.
- 中村克典・曽根晃一・大隈浩美(1999)サンケイ式昆虫誘引器を改良したマツノマダラカミキリ生け捕り用トラップ. 日本応用動物昆虫学会誌、43、55-59
- 大林延夫・新里達也(2007)日本産カミキリムシ. 東海大学出版会、818p.
- Shoda-Kagaya E (2007) Genetic differentiation of the pine wilt disease vector *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) over a mountain range revealed from microsatellite DNA markers. Bulletin of Entomological Research, 97(1), 167-174.

(中村克典)

第2章 マツノザイセンチュウ簡易検出技術の開発

ア 研究目的

材線虫病の診断には線虫を分離し同定する専門的な装置と知識が必要であるため、診断は専門機関で行われ、サンプルの採取から判定までに数週間要することも少なくない。診断効率の悪さは防除対策の遅れにもつながる。また、昨今、材線虫病対策の焦点となっている東北地方等の寒冷地では、罹病木内のマツノザイセンチュウ密度の低さのため、従来のベールマン法による線虫検出が非常に困難な場合があり、低密度なマツノザイセンチュウを的確に検出できる手法が強く望まれている。

近年、国際的には PCR 法によるマツノザイセンチュウ検出技術の開発が進んでいる。この方法では、材内に生息するマツノザイセンチュウの DNA を検出の対象としており、迅速かつ正確な診断技術につながるものとして期待されているが、高額な機材の運用が前提となるため、経済性や汎用性の面で課題が多い。

そこで本課題では、PCR 法より簡便で汎用性の高い遺伝子増幅技術として LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法に着目し、この方法によるマツノザイセンチュウ 検出技術の開発に取り組む。また、材片試料の採取からマツノザイセンチュウの検出に至るまでの工程をできる限り簡略化する。

イ 研究方法

LAMP 法を用いた簡便なマツノザイセンチュウ検出手法を検証した。具体的には、①マツ枯死木材片を直接 DNA 抽出液に漬けることによって、材内のマツノザイセンチュウの DNA を抽出する方法の考案、②マツノザイセンチュウの DNA に特異的に反応するプライマーの開発、③LAMP反応の最適時間の検証、④マツノザイセンチュウ以外の線虫に反応しないことの確認、⑤ベールマン法によるマツノザイセンチュウ検出力との比較、などである。本検出法の大枠が完成した段階で、製品化に向けたモニターテストを行い、本手法の有効性について第三者機関による評価を受けた。

さらに高度なマツノザイセンチュウ検出手法の開発に向け、次世代シークエンサーによるマツ ノザイセンチュウのドラフトゲノムの解読を行った。

ウ 結果

線虫の体表を効率よく溶かす酵素を使用することにより、約30分で材片から直接マツノザイセンチュウのDNAを抽出することに成功した。また、そのDNA抽出液を用いて、LAMP法によるマツノザイセンチュウのDNA増幅が起こること、そして他の線虫のDNAには全く反応しないことを確認した(Kikuchi et al., 2007)。マツノザイセンチュウのDNAを増幅させるための最適な反応時間は60分程度であることがわかった。このように、DNA抽出から検出まで約90分で完結する方法が完成した。この方法では、ベールマン法では検出できないような低密度のマツノザイセンチュウを含む材片でもマツノザイセンチュウの検出が可能であり、極低密度な場合でも、検査数を増やせば検出可能であった。このように、マツノザイセンチュウの遺伝子に特異的に反応する遺伝子増幅液法が開発され、反応液の色調によりマツノザイセンチュウを検出する新しい方

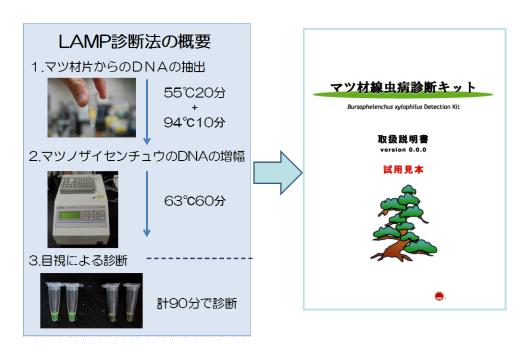


図 2-1 LAMP 診断法の手順の概要と製品取扱説明書。

法が完成した。

モニターテストの結果に基づいて、材片の採集方法、DNA 抽出方法、LAMP 反応の感度などを精査し、2009 年 6 月 19 日、株式会社ニッポンジーンより「マツ材線虫病診断キット」として製品化されるに至った(図 $1\cdot3$)。

次世代シークエンサーによるマツノザイセンチュウのゲノム解析をすすめたところ、本種のゲノムサイズは 70 megabase 程度で、少なくとも 10,000 の遺伝子をコードしていることなどが明らかになった。

工 考察

LAMP 診断法が確立されたことで、これまでよりも簡易かつ短時間(約90分)で材線虫病の診断を下すことができるようになった(Aikawa et al., 2009; 相川、2010; 相川ら、2010a、b)。また、この技術を使うことで、線虫の分類に関する専門的な知識、技術を習得しなくてもマツノザイセンチュウを検出することが可能になった。さらに、ベールマン法では検出できないような低密度なマツノザイセンチュウも検出できるようになった。これらは、枯死木の発見から防除対策に至る手順の迅速化、高精度化に資するものである。

オ 今後の問題点

マツノザイセンチュウのゲノム解析は、マツノザイセンチュウ検出手法開発のためだけでなく、 材線虫病研究の基盤情報として国際的に研究需要が高く、取り組みの強化が必要である。

力 要約

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法を利用した、簡便、迅速で高精度なマツノザイセンチュウ検出技術を開発し、製品化した。本手法では、線虫の分類に関する専門的な知

識、技術や PCR 機のような高額な機械を必要とせず、ベールマン法では検出できないような低密度なマツノザイセンチュウも検出可能である。

さらに高度なマツノザイセンチュウ検出手法の開発に向け、次世代シークエンサーによるマツノザイセンチュウのゲノム解析に着手し、本種のゲノムサイズは70 megabase 程度で、少なくとも10,000 の遺伝子をコードしていることなどを明らかにした。

キ 引用文献

- 相川拓也(2010)マツノザイセンチュウのDNA情報を利用した簡易なマツ材線虫病診断法:マッオ線虫病診断キットのご紹介.森林と林業、14-15.
- Aikawa T., Kanzaki N., Kikuchi T. (2009) Simple diagnosis of Pine Wilt Disease using loop-mediated isothermal amplification. Program and abstracts of IUFRO International Symposium on Pine Wilt Disease, Nanjing, China, 34.
- 相川拓也・神崎菜摘・菊地泰生(2010a)マツノザイセンチュウの DNA 情報を利用した簡易なマッオ線虫病診断法の開発. 林業新技術 2010、3-4.
- 相川拓也・神崎菜摘・菊地泰生(2010b)マツノザイセンチュウの DNA を利用した簡易なマツ材線虫病診断ツール"マツ材線虫病診断キット"について.森林防疫、59、60-67.
- Kikuchi T., Aikawa T., Oeda Y., Karim N., Kanzaki N. (2009) A rapid and precise diagnostic method for detecting the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification. Phytopathology, 99, 1365-1369.

(相川拓也・中村克典)

ア 研究目的

マツノマダラカミキリ、マツノザイセンチュウの活動は低温で抑制されるため、寒冷地では材 線虫病のマツ個体群に及ぼす影響は西南日本に比べれば小さくなると考えられる。一方、東北地 方のアカマツ林ではコナラ等の高木性落葉広葉樹が混交することが多く、また海岸クロマツ林で もカシワという強力な代替植生があるため、「マツが枯れれば広葉樹林になる」という楽観的な予 想が一応の説得力を持つ。しかしながら、東北地方のマツ林に材線虫病が侵入した際、植生にど のような変化が起こるのかについて、一般的な結論を導くことができるほどの調査研究は行われ てこなかった。

そこで本課題では、内陸アカマツ林における既存の林分植生調査やアカマツ抜き切り試験、間 伐試験のデータ、あるいは実際に材線虫病被害が侵入している秋田県の海岸クロマツ林での林分 調査結果を基に、材線虫病の侵入によってマツ林が受ける影響の程度を評価する。

イ 研究方法

①アカマツー広葉樹混交状態の類型化に基づく松枯れ後植生変化予測

岩手県雫石町の岩手大学御明神演習林のアカマツ、コナラ、ミズナラなどにより構成される二次林 411 林分およびアカマツ人工林 ($10\sim30$ 年生) 68 林分の植生調査資料を解析に用いた。調査は $1983\sim1985$ に行われ、10 m×50 m のプロット内の胸高直径 10 cm 以上(一部は樹高 2 m 以上)の樹木(低木種除く)について胸高直径と樹高が測定された。樹種構成による群落区分は TWINSPAN により行った。アカマツと広葉樹の混交状態の類型化は、植杉(1943)に従い、K型(アカマツ純林)、M α 型(アカマツー広葉樹二段林)、M β 型(アカマツ・広葉樹混交林)、L型(広葉樹優占)に区分した(図 3-1)。

②アカマツー広葉樹二段林におけるアカマツ抜き切り 15 年後の林分構造

岩手県雫石町の岩手大学御明神演習林内のアカマツー広葉樹二段林で、アカマツ抜き切り施業 を行った林分における林分構造の変化を検証し、材線虫病によりアカマツが消失した際に起こる

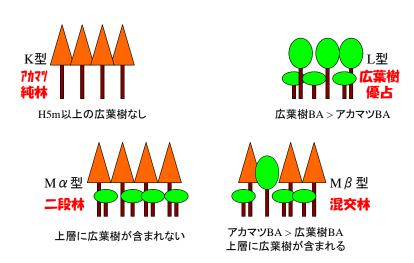


図 3-1 植杉(1943)による、アカマツ・広葉樹の混交状態の類型。

事態を類推した(杉田ら、2010)。この林分については、伐採9年前の植生が記録されており、伐採15年後に当たる平成20年に現地調査結果を行って、伐採前後の植生の変化を比較した。

③高齢アカマツの林冠疎開への反応

2002年に本数率 27%、材積率 18%の間伐が実施された岩手県一関市大東町のアカマツ高齢人工林における、アカマツの成長調査結果を解析した。人工林間伐区、人工林対照区、および天然林区のそれぞれから無作為に選んだ各 13 本のアカマツについて、2002年から 2010年の開葉期(3~4月)に胸高周囲を測定した。個体間の競争関係を調べるため、2008年4月に各サンプル木から最も近い3本のアカマツまでの距離と胸高周囲を測定した。樹幹面積については、2002年3月に人工林間伐区と天然林区のそれぞれ4および5本について測定したデータを利用した。間伐前後における直径成長の改善度を階層ベイズ法を用いて統計的に解析した。

④秋田県の海岸クロマツ林における松枯れ後のクロマツおよび広葉樹の生育状況

秋田県内に設定された海岸クロマツ生育試験地(2000年設定;17地区、全220調査区)において、林分の疎密度および林内に出現した広葉樹(DBH 3 cm以上)の数とサイズを調査した。松枯れによって疎林化が進行中のクロマツ林分において、クロマツの天然下種更新の可能性を検討した。内陸側に天然性の広葉樹林が隣接するクロマツ林で広葉樹の侵入実態を調べた。海岸マツ林に広汎に分布するニセアカシアのマツ林衰退に伴う林分構造変化を調査した。

ウ結果

①アカマツー広葉樹混交状態の類型化に基づく 松枯れ後植生変化予測

調査林分は樹種構成により、アカマツの出現頻度が高い A 群とミズナラ、ハクウンボクの出現頻度が高い B 群に大別された (表 3·1)。コナラ、クリ、カスミザクラ、ホオノキ、ヤマモミジ、アズキナシなどはいずれの群でも高い頻度で出現した。A 群に混生する広葉樹の中で最も優占していたのはコナラであり、カスミザクラがそれに次いだ。

アカマツと広葉樹の混交状態の類型では、アカマツ純林状の K型(樹高 5 m 以上の広葉樹がみられない)はほとんど見られず、二段林状の $M\alpha$ 型と林冠層で混交している $M\beta$ 型が多く見られ

表 3-1 岩手大学御明神演習林のアカマツー広葉樹二次林およびアカマツ人工林のTWINSPANによる群落型区分。樹種名の右の数値は、その樹種の各群落型における各樹種の出現率(%)を示す。

	A1	A2	B1	B2
	n= 103	237	60	11
アカマツ	99	91	22	0
ウリハタ゛カエテ゛	37	4	7	0
コミネカエテ゛	36	4	3	0
ヤマウルシ	34	5	5	0
ミス゛ナラ	7	22	95	100
ハクウンホ゛ク	0	0	65	91
ミス゛キ サワシハ゛ シナノキ*	23 0 0	2 0 0	3 0 2	82 55 45
コナラ	88	98	93	73
カスミサ゛クラ類**	64	79	72	45
クリ	59	39	52	100
ホオノキ	35	39	63	55
ヤマモミシ゛類***	66	34	42	27
アス・キナシ	47	52	28	18
イタヤカエテ゛ スリッ゛マナク゛エキラッッ	33	11	8	55
マルハ゛アオタ゛モ類*** マナ・ケ゛	•	12	47	18
アオハダ	13	11	20	27
コシアフ゛ラ	24	4	3	0
エコント	23	3	7	0
ヒトツハ゛カエテ゛	20	2	3	9
*オオバボダブイジっ含む	**オオヤマサ	クラ会ずこ		

^{*}オオバボダイジュ含む、**オオヤマザクラ含む、

^{***}ハウチワカエデ、コハウチワカエデ、含む、****アオダモ含む

た(図 3-2)。混交した広葉樹の胸高断面積は、アカマツの胸高断面積の値にかかわらず、 $M\alpha$ で $0\sim10$ m^2/ha 、 $M\beta$ で $5\sim15$ m^2/ha 程度の値を維持していた。

②アカマツ-広葉樹二段林におけるアカマツ抜き切り 15 年後の林分構造

アカマツ抜き伐り前の林分ではアカマツが上層を占め、コナラを主としてカスミザクラ、クリなどの広葉樹が下層を構成し(図 3-3)、クマイザサが林床に密生していた。胸高断面積で見るとアカマツ $11\sim 36~m^2/ha$ 、広葉樹 $11\sim 13~m^2/ha$ で、アカマツの相対胸高断面積が $46\sim 77\%$ の混交林あるいは二段林であった。胸高直径 3~cm 以上の広葉樹の本数密度は 807~a

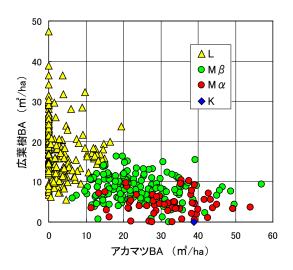


図 3-2 植杉(1943)の類型にしたがって区分 された各コドラートにおける、アカマツと広葉樹 の胸高断面積合計の関係。

樹高(13 m)のナラ二次林の標準的な密度が 2308 本/ha である(岩手県林業水産部、1987) のと比べると、かなり低い値であった。

アカマツ上層木がすべて伐採された伐採 15 年後には、下層にいた広葉樹が林冠を形成し、胸高 断面積 11.8 m²/ha、上層木平均樹高 14.7 m のコナラが優占する落葉広葉樹林となっていた (図

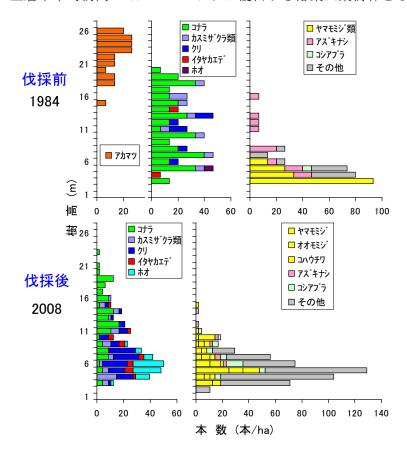


図 3-3 アカマツ抜き伐り前(上)と後(下)における、各樹種の樹高階分布。

3-3)。しかし、その本数密度は DBH 3 cm 以上の本数 935 本/ha、上層木本数 121 本/ha で、岩手県における同等の樹高をもつ標準的なナラ二次林と比較して約半分の値であった。伐採前に比べ太いものの本数が減っており、アカマツ伐採の際に伐倒木の下敷きになったり支障木として伐採された可能性が考えられる。また、林冠木となった広葉樹には主幹折れなどの損傷を受けたものが多くみられ、とくにカスミザクラで顕著であった。広葉樹の疎な樹冠のすき間の部分には、伐採後に伸び始めたと思われる樹高 $5\sim6$ m 程度の若いパッチがみられた。その若木集団では、コナラは林冠層ほどの優勢を示さず、クリ、ホオノキが優占していた(図 3-3)。

③高齢アカマツの林冠疎開への反応

高齢人工林のアカマツの樹冠面積、連年直径成長速度は間伐後増加トレンドを示したが、その傾向は周辺個体との距離が近いほど顕著であった(正木ら、2011)。このことは、高齢アカマツの成長が単に隣接個体との競争で抑制されているわけではなく、疎開された林冠が残存個体の成長で補完されるとはかぎらないことを示している。

④秋田県の海岸クロマツ林における松枯れ後のクロマツおよび広葉樹の生育状況

2000 年の調査区設定当時、各調査地のクロマツ林は成長に応じ十分な林分密度を保っていた。しかし、県央部、県南部の防除が行われなかった調査地では2004年までに松枯れが急速に進行し、10年経った2010年時点でクロマツの生育本数、蓄積量はそれぞれ設定時の6%、5%まで減少した(図3-4)。防除が行われた調査地でもクロマツの本数は設定時の63%に減少していたが、蓄積量は120%まで増加していた。海岸クロマツ林内の広葉樹の平均樹高は4.9 m、立木密度は420本/haとともに低く(図3-5)、胸高断面積合計1 m²/haを森林化が期待できる下限と想定しても、これを越える方形区は全体の2割弱に過ぎなかった。

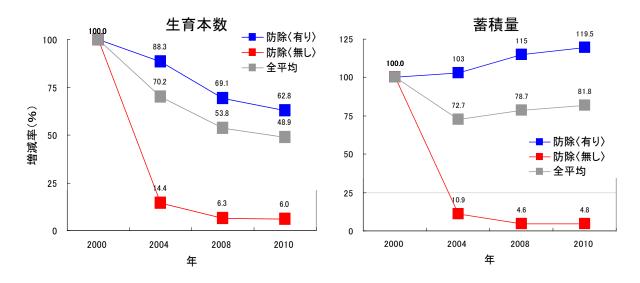


図 3-4 秋田県の海岸クロマツ林生育試験地で、材線虫病防除を行った場合と行わなかった場合の 生育本数、蓄積量の違い。

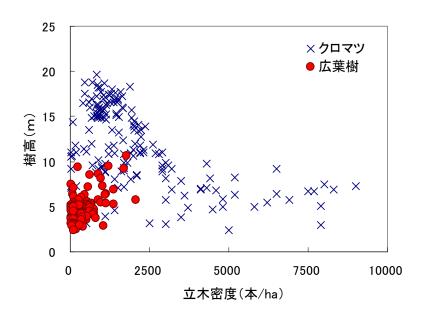


図 3-5 秋田県の海岸クロマツ林生育試験地の各調査区における、クロマツと広葉樹の生育状況。

クロマツ林内に広葉樹が確認された調査区は 100 箇所(全調査区の 45.4%)であった。カスミザクラ、ヤマグワ、コナラ、ニセアカシア、カシワ、ミズナラなど確認されたが、それらはクロマツの庇護の下で生育しており、樹高も密度も低かった。この地域の海岸潜在自然植生を構成するカシワ、エゾイタヤ、ケヤキ、シナノキなどは多くなかった。クロマツ林への広葉樹の侵入状況と林分疎密度との間に一定の関係は認められなかったが、広葉樹林に隣接する調査地では広葉樹の侵入が盛んで、クロマツが消失してもカシワを主体とした林分に置き換わると予測された。

クロマツの天然更新林分では、クロマツ稚樹の分布や密度は下層植生の被度や林床を覆う落葉層の厚さなどに制限されて不均一であり、樹高成長は樹冠開空度の影響を強く受けていた(図 3-6)。 疎林内で発生した天然更新のクロマツ林の成長量は人工林の約半分であり、稚樹の成長を維持するには開空率 60%を維持する必要があった。

下層をニセアカシアが優占する林分で 上層のクロマツが材線虫病により失われ た場合、樹高成長は潮風環境を反映し、潮 風の強く当たる林分では上部枯死して樹 高が急激に低下した。このような場所のニ セアカシアは上木が倒れても萌芽により 個体群を維持していたが、高木密度は高く なかった。

工 考察

東北地方のアカマツの優占する二次林 にはコナラを主とする広葉樹が混交して いる場合が多く、このような林分で材線虫

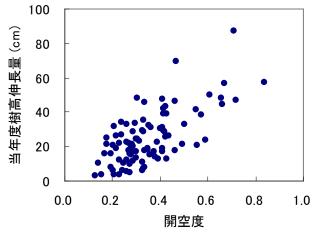


図 3-6 下種更新したクロマツ稚樹の樹高成長に及ぼす開空度の効果。

病侵入によりアカマツが消失すれば、広葉樹林二次林へと移行すると考えられた。しかしながら、 広葉樹の本数密度は標準的な広葉樹林二次林に比べて著しく低く、疎林化することが危惧された。 実際、アカマツ抜き切りを行った林分は、伐採後 15 年経ってもコナラを主とする落葉広葉樹の上 層木密度が 121 本/ha という疎林状態にあった。この例から明らかなように、東北地方のアカマツ 林で下層に広葉樹が多数見られる場合であっても、林冠を形成するアカマツが急速に失われた場 合には疎林化し、少なくとも短期的には森林が劣化することは免れないと考えられた。ただし、 林内にはクリ、ホオノキの優占する若木集団が見られ、これらが成長してゆけば、やがては成熟 した里山二次林へと移行してゆくであろう。

高齢アカマツ林での間伐試験によると、アカマツ残存木の間伐後の成長が単に隣接個体との競争で抑制されているわけではなかった。したがって、このような林分では、材線虫病によりアカマツの個体数減少が生じても、その損失がそのまま残存個体の成長で補完されることにはならないであろう。

秋田県の海岸クロマツ生育試験地のうち、防除が行われなかった地区では無立木化が進み、防除が継続して実施された地区では林分として維持可能な立木密度が保たれていた。このことは、材線虫病分布北限地域に近い秋田県の海岸クロマツ林でも、防除を実施しなければマツ林は急速に消失する可能性が高いことを示す。海岸クロマツ林内に生育する広葉樹の樹高、立木密度は低いため、材線虫病でクロマツが急速に消失した後に成立する広葉樹林は低木の疎林とならざるを得ず、森林として維持するには人工植栽を考えざるを得ない。海岸林で旺盛な繁殖を示すニセアカシアは強い潮風を受けると衰退するため、穏やかな環境下でのみ群落を形成・拡大しており、クロマツの防災機能を代替することはできないと考えられた。

海岸クロマツ林におけるクロマツ稚樹の分布は下層植生や林床状態を反映して不均一であり、成長は樹冠開空度の影響を強く受けていた。海岸林の防災機能を維持するためにクロマツの天然更新を促進しようとするなら、林床整備や光環境の調整により稚樹の定着と成長を促すことが必要である。

オ 今後の問題点

松枯れ後に生じるとされる疎林状態がどの程度の時間スケールで回復可能なものなのか、防災機能などの観点から見て許容範囲内のものであるのかなどの点について、定量的に検証することができなかった。行政施策への反映を図るには、植生回復過程のモデル化、砂防・防災関係の研究者との共同などにより定量的な判断基準を示していくことが必要である。

力 要約

東北地方内陸アカマツ林における林分植生調査やアカマツ抜き切り試験、間伐試験、あるいは 実際に材線虫病被害が侵入した秋田県の海岸クロマツ林での林分調査のデータから、東北地方の マツ林に材線虫病が侵入した際マツ林が受ける影響の程度や植生の変化について予測を試みた。

岩手県雫石町のアカマツを含む二次林およびアカマツ人工林では、多くの場合コナラを中心とする広葉樹が二段林状、または林冠層に達する形で混交していた。このようなアカマツー広葉樹混交林でアカマツのみを伐採した事例によると、伐採後の森林は下層にあったコナラを中心とする落葉広葉樹林となったが、広葉樹の本数密度は伐採後15年を経ても標準的な広葉樹林二次林に

比べて著しく低い疎林状態にあった。ただし、林内にはクリ、ホオノキの優占する若木集団が見られ、成熟した里山二次林へと移行する過程にあると考えられた。高齢アカマツ林での間伐試験では、残存木の成長は間伐後必ずしも促進されるわけではなかった。以上から、東北地方のアカマツ林に材線虫病が侵入した場合、疎開された林冠がアカマツ残存木の成長や下層の広葉樹の生長で急速に補完されることはなく、少なくとも短期的な森林劣化は免れないと考えられた。

東北地方の秋田県でも、海岸クロマツ林に材線虫病が侵入すれば、防除なしに林分を維持することは困難であった。林内に生育する広葉樹の樹高、立木密度は低いため、材線虫病でクロマツが急速に消失した後に成立する広葉樹林は低木の疎林となり、クロマツ林内で旺盛な繁殖を示すニセアカシアもクロマツが衰退すると潮風により高木状態を維持できないため、いずれもクロマツ林のもつ海岸防災林としての機能を代替することはできないと考えられた。海岸林の防災機能を維持するためにクロマツの天然更新を促進するには、実生の定着を阻害する林床の Ao 層の整理や成長の規定要因である光環境の調整が必要となるだろう。

キ 引用文献

岩手県林業水産部(1987)岩手県民有林広葉樹林の生育と収穫量及び施業方法の検討. 41pp.

正木隆・森茂太・梶本卓也・相澤州平・池田重人・八木橋勉・柴田銃江・櫃間岳(2011)高齢・ 高密度のアカマツ林の間伐は個体の成長を改善するか、日本森林学会誌、93、48-57.

杉田久志・高橋利彦・柴田銃江・星野大介・櫃間 岳・八木橋勉・中村克典(2010)岩手県雫石町のアカマツ-落葉広葉樹二段林におけるアカマツ抜き伐り後の広葉樹下木の林分構造の変化.東北森林科学会誌、15(1)、11-19.

植杉哲夫(1952) 岩手地方赤松林の成長収穫並びに施業法に関する研究. 収穫表調製業務研究資料、1、1-246、林野庁.

(杉田久志・正木 隆・金子智紀・中村克典)

第4章 加害生物の生息実態とマツ林の動態予測に基づく材線虫病被害分布予測と 対応戦略の策定

ア 研究目的

寒冷地での材線虫病被害分布予測については、温度等の気候値を指標にした推定がすでにいくつか提案されている(例えば、竹谷ら、1975;小林、1988;中村・野口、2006;五十嵐、2007)。これらの予測は、マツノマダラカミキリやマツノザイセンチュウの発育や行動に基盤をおいているものの、実際の現地における加害生物や寄主であるマツ類の動態は反映されていない。

ここでは、本プロジェクトで得られた知見を集約し、加害生物の侵入圧や生息適性、あるいは 寄主の更新条件などの情報を組み入れることにより、より現実的で精度の高い材線虫病被害分布 予測を提示し、適切な予防法を提示する。また、予測される被害程度のもとでのマツ林の動態予 測に基づき、被害侵入に際しての対応戦略を提示する。

イ 研究方法

北東北のアカマツ・クロマツ林にマツ材線虫病が侵入した際の被害拡大危険度と植生動態予測から、北限未侵入域においてとられるべき戦略目標を定めた。青森県におけるアカマツ・クロマツの分布(県資料)、温量指数による材線虫病被害分布予測(中村・野口、2006)、隣接する秋田県・岩手県での被害状況の情報と本研究で明らかにした加害生物生息状況から、青森県を例にした材線虫病侵入への対応戦略を策定した。

ウ結果

本プロジェクトで得られた知見から、青森県での材線虫病対策を考えるにあたって、以下のような前提条件を設定することができる。①青森県に材線虫病の媒介昆虫やニセマツノザイセンチュウは生息していないので、全域にわたり新たな侵入への警戒が対策の中心になる。②県西南部深浦町では、防除帯の効果により多少弱まっているものの、秋田県側からのマツノマダラカミキリの飛来が想定されるので、材線虫病の侵入を重点的に警戒するべきである。③アカマツ林でアカマツが枯れれば、当面は相当な疎林状態となることを覚悟しなければならない。④材線虫病が侵入すれば海岸クロマツ林は崩壊し、後継広葉樹が直ちに成林する可能性は低いので、「放置」というオプションは採り得ない。これらの条件と、既往の知見である、青森県におけるアカマツ・クロマツの分布、温量指数による材線虫病被害分布予測、隣接する秋田県・岩手県での被害状況の情報から、青森県内を4地域に区分し、それぞれの地域で材線虫病侵入に備えて講じられるべき施策の方針を提示した(中村、2011;中村ら、2011)(図 4-1)。すなわち、

A 西南沿岸部: 材線虫病感受性の高いクロマツが分布し、比較的気温が高い上、秋田県側からのマツノマダラカミキリ成虫の飛来が想定されることから、侵入の危険度が最も高く、重点的な対策が必要である。通常の地上からの被害木探査のみならず、航空機等を利用した高精度な探査や防護帯形成(抵抗性植栽も含む)のような高コストな措置が考えられてよい。また、マツノマダラカミキリ定着可能性を低下させるためのマツ林における衛生伐も有効である。マツノマダラカミキリの発生源となる秋田県側の被害動向に応じ、機動的に対策を講じられる体制構築が望まれる。

B: 弘前・青森地域
アカマツ林が散在/温度条件による抑制効果弱い
→マツ材線虫病が発生しても広がりにくい
主要な交通機関の経路
→被害材、マツノマダラカミキリ人為移入の
危険性高い

Aに準ずる強度の監視活動

、除間伐によるマツ林健全度維持/広葉樹林化

A':半島部海岸林 クロマツ多い/気象害発生しやすい /温度条件による抑制効果強い →マツ材線虫病の侵入・拡大は困難 >あまり強度でない監視活動 >除間伐によるマツ林健全度維持

A:西南沿岸部

クロマツが多い/温度条件による抑制効果弱い →マツ材線虫病が侵入・拡大しやすい マツノマダラカミキリ成虫の飛来・侵入の危険度が 大きい

- ▶マツ材線虫病侵入を見逃さない徹底した監視体勢
- >県境を越えた情報収集, 監視
- ▶マツ林分断(防護帯形成)や抵抗性植栽による マツ材線虫病侵入・定着予防措置

C:三八地域

- アカマツ林地帯/温度条件による抑制効果強い
- / 既被害地から隔離されている
 - →マツ材線虫病の侵入・拡大は困難
- ▶あまり強度でない監視活動
- ▶アカマツの積極的利用を通じたマツ林の健全度維持

図 4-1 マツ材線虫病の侵入・拡大可能性の評価に基づく、青森県における材線虫病対応戦略。 背景の地図の赤色はアカマツ、緑色はクロマツの分布域を表す(青森県資料)。

A' 半島部海岸林: 材線虫病感受性の高いクロマツが広く分布するが材線虫病が拡大するには気

温が低く、マツノマダラカミキリ等の媒介昆虫が生息しないので現時点で被害拡大危険度は低い。 地上からの監視に加え、通常の施業の範囲で除伐等を実施する。蓬田村の事例のように突発的な 被害木が発見されたときは当該木を適切に処分し、潜在感染の可能性を考慮して数年に渡り周辺 を重点的に監視する。

B 弘前・青森地域:主に分布する樹種はクロマツより材線虫病に強いアカマツだが、気温がやや高いので、材線虫病が侵入すればその年の温度条件によって定着する可能性が否定できない。マツノマダラカミキリと同属のヒゲナガカミキリが生息することは危険因子だが、高標高地に分布するので当面問題とはならない。都市部であり交通機関が発達していることから、被害材の人為持ち込みや交通機関を介した媒介昆虫の移入の危険性が高く、この点を意識した監視活動が求められる。南に隣接する秋田県大館市周辺で被害が拡大した場合には、対策を強化する必要がある。 C 三八地域:アカマツ林が広く分布するが、温度は低く、媒介昆虫はおらず、被害地からも遠いことから、材線虫病侵入危険度はA'に準じる。間伐放置や老齢化によるアカマツ衰弱は将来的な危険因子となるので、アカマツの積極的利用を通じた施業的対策(除間伐、更新)が図られるべきである。

工 考察

結果の項にまとめて述べた。

オ 今後の問題点

材線虫病対応戦略を策定する上で、アカマツ・クロマツの分布情報は基礎となるものであるが、このような樹種単位での詳細な植生区分情報が整備されている例は極めてまれである。リモートセンシング技術等を援用して、防除戦略上必要な任意の場所について必要な植生区分情報を得られる技術開発が是非必要である。

力 要約

材線虫病北限未侵入域である青森県を例として、マツ林分布や温度環境に基づく材線虫病被害分布予測などの既往の知見に本プロジェクトで得られた加害生物の侵入圧や生息適性、あるいは植生動態予測などの情報を組み入れて、材線虫病の侵入に際しての防除戦略を策定した。本プロジェクトの成果より、県内に材線虫病の媒介昆虫やニセマツノザイセンチュウは生息していないが、県西南部深浦町は秋田県側から飛来するマツノマダラカミキリによる被害侵入の可能性があり、対策の重点地域であると判断できた。また、材線虫病の侵入を許せばアカマツ林は広葉樹疎林となり、海岸クロマツ林は崩壊して公益的機能が損なわれると予想され、いずれにおいても「放置」というオプションは採り得ないものと考えた。これらの条件を前提に、青森県におけるアカマツ・クロマツの分布、温量指数による材線虫病被害分布予測、隣接する秋田県・岩手県での被害状況の情報を重ね合わせ、材線虫病の侵入・被害拡大可能性に応じて青森県内を4地域に区分し、それぞれの地域で材線虫病侵入に備えて講じられるべき施策の方針を提示した。

キ引用文献

五十嵐正俊(2007)「松くい虫」の被害は青森県にも達するのだろうか? 森林防疫、56(4)、116-121.

- 小林光憲(1988)マツ材線虫病に関する研究成果(II)メッシュ気候情報システムを利用したマツノマダラカミキリ生息適地の推定. 岩手県林試成報、20、13-20.
- 中村克典(2011) 北限未侵入地域でのマツ材線虫病対策を考える:公開シンポジウム「未侵入地域での効果的な松くい虫予防対策に向けて」より.森林防疫、60(6)、223-229.
- 中村克典・杉田久志・木村公樹・金子智紀(2011)マツ材線虫病北限未侵入地域を守るための対応戦略.森林総合研究所第2期中期計画成果集:重点課題アイa生物多様性保全技術及び野生生物等による被害対策技術の開発、32-33.
- 中村克典・野口絵美(2006)温量指数によるマツ材線虫病自然抑制域・自然抑制限界域の推定: MB 指数のリニューアルを通して、第117回日本森林学会講演要旨集(CD-ROM)、PF16.
- 竹谷昭彦・奥田素男・細田隆治(1975)マツの激害型枯損木の発生環境:温量からの解析. 日本 林学会誌、57、169-175.

(中村克典)